

Zytoprotektion durch Antacida

Vorgelegt

von

Ingrid Rupprecht

aus

Nürnberg

Diss. Erlangen
1984

1984 № 38





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Prof.Dr.med,L.Demling

Zytoprotektion durch Antacida

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Ingrid Rupprecht
aus Nürnberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof.Dr.F.Wolf
Referent: Priv.-Doz.Dr.H.Ruppin
Korreferent: Prof.Dr.L.Demling

Tag der mündlichen Prüfung: 09.01.1984

Für Norbert, Mutts und Paps

Inhaltsverzeichnis

I Einleitung

II Methodik

1. Probanden ..
2. Studienaufbau
3. Gastric Washing
4. DNA-Bestimmung
5. Statistik
6. Materialangaben

III Ergebnisse

1. Nebenwirkungen
2. Ausscheiden zweier Probanden
3. Akutversuche ohne Alkoholinstillation
4. Akutversuche mit Alkoholinstillation
5. Chronische Versuche

IV Diskussion

1. Gastric Washing
2. DNA-Bestimmung
3. Ergebnisse

V Zusammenfassung

VI Literaturverzeichnis

VII Anhang: Lebenslauf

I Einleitung

In der Ulcusprophylaxe und der konservativen Ulcus-therapie spielen Antacida zusammen mit H_2 -Rezeptorblockern eine große Rolle.

Die Wirksamkeit von Antacida beim Ulcus duodeni ist nachgewiesen (14), beim Ulcus ventriculi gibt es diesbezüglich noch unterschiedliche Meinungen (2, 9).

Ebenso herrschen verschiedene Ansichten über die Schmerzdämpfung durch Antacida beim Duodenalulcus (11,20), während sie für das peptische Magengeschwür belegt wurde (9).

Über den eigentlichen Wirkungsmechanismus der Antacida weiß man jedoch noch sehr wenig. Man zieht chemische Eigenschaften wie Neutralisierung der Magensäure und Bindung von Gallensalzen zur Erklärung heran (3,10,13).

Histo-enzymatische Untersuchungen am Rattenmagen eröffneten bei einem Vergleich zwischen Aluminiumhydroxid-Magnesiumhydroxidgel (Maaloxan^R) und Aluminiumphosphatgel (Phosphalugel^R) einen neuen Aspekt: Das in Phosphalugel^R enthaltene Phosphatradikal soll eine katalytische Kontaktwirkung auf die apikalen Mukosapole ausüben, den intrazellulä-



ren Stoffwechsel aktivieren und damit im Sinne einer biologisch aktiven, kolloidalen Membran wirken (22).

Diese Ergebnisse führten dazu, eine protektive Wirkung der Antacida am Magen auch beim Menschen zu untersuchen. Als Methode der Wahl bot sich die von Croft entwickelte Magenwaschung an, mit der man den Zellturnover der Mukosa ermitteln kann (4).

Aggressoren wie Alkohol, Acetylsalicylsäure, scharfe Gewürze etc. erhöhen die Zellabschilferung der Magenschleimhaut (8,12). Eine protektive Wirkung der Antacida müßte sich dann also in einer Hemmung der durch die oben erwähnten Noxen induzierten Zunahme der Zelldesquamationsrate äußern.

Ein solcher Effekt wurde für Prostaglandin E_2 bereits nachgewiesen (16). Robert et al haben die zytoprotektive Wirkung verschiedener Prostaglandine bei der Ratte eingehend untersucht (15).

II Methodik

1. Probanden

An der Studie beteiligten sich acht Probanden, von denen drei männlichen und fünf weiblichen Geschlechts

waren. Das Durchschnittsalter der Gruppe betrug $26 \pm 2,1$ Jahre, ihre Körpergröße $172,5 \pm 9,8$ cm und ihr Körpergewicht $60,5 \pm 9,1$ kg (Mittelwerte ± 1 SD).

2. Studienaufbau

Bei der vorliegenden Untersuchung handelt es sich um eine randomisierte Doppelblindstudie, die in drei Versuchseinheiten gegliedert war.

Im ersten Abschnitt wurde die Wirkung der Antacida auf den basalen Zellturnover der Magenschleimhaut untersucht (Akutversuch ohne Alkohol).

Im zweiten Teil wurde die Wirkung von Alkohol nach unmittelbar vorangegangener Antacidumgabe getestet (Akutversuch mit Alkohol) und im dritten Abschnitt die Wirkung von Alkohol auf den Turnover nach vierwöchiger Einnahme eines Antacidums (chronischer Versuch).

Die Effekte der Antacida auf die basale und alkohol-stimulierte gastrale Zelldesquamationsrate wurden mit denen eines Placebopräparates verglichen.

Die Einnahmezeit betrug für Maaloxan^R $28,5 \pm 3,3$ Tage, für Phosphalugel^R $27,5 \pm 1,9$ Tage und das Placebo wurde durchschnittlich $27,6 \pm 2,7$ Tage eingenommen (Mittelwerte ± 1 SD).

Die Untersuchungen erstreckten sich in jedem Falle über einen Zeitraum von fünf Monaten.

Jeder der acht Probanden wurde insgesamt neunmal mittels Magenwaschung (s.u.) untersucht und nahm dreimal über vier Wochen hinweg eines der beiden Antacida bzw. Placebo ein.

Zunächst wurden die beiden Präparate bzw. Placebo im Akutversuch ohne Alkoholgabe getestet. Die Reihenfolge der Präparate bzw. des Placebos erfolgte randomisiert. Zwischen den einzelnen Untersuchungen lag jeweils ein Intervall von einer Woche.

Mit Beginn der vierten Woche wurden die drei Substanzen nochmals geprüft und dazu jeweils 30 min vor der Instillation von 50 ml 40%igen Alkohols intragastral verabreicht.

Im Anschluß an den Akutversuch mit Alkohol folgte die chronische Einnahmeperiode für das entsprechende Präparat: der Proband nahm über vier Wochen 3 x täglich 2 Beutel des Präparates ein (1 Beutel Maaloxan^R = 10 ml Suspension, 1 Beutel Phosphalugel^R = 16 g Gel, 1 Beutel Placebo = 16 g Agar-Agargel).

Am Morgen nach der letzten abendlichen Dosis wurde der Test mit Alkohol, jedoch ohne vorherige akute Verabreichung der Prüfsubstanz, wiederholt.

Woche	1	Akutversuch ohne Alkohol	Substanz X
	2	Akutversuch ohne Alkohol	Substanz Y
	3	Akutversuch ohne Alkohol	Substanz Z
	4	Akutversuch mit Alkohol Einnahme	Substanz X Substanz X
	5	Einnahme	Substanz X
	6	Einnahme	Substanz X
	7	Einnahme Chronischer Versuch	Substanz X
	8	Pause	
	9	Pause	
	10	Akutversuch mit Alkohol Einnahme	Substanz Y Substanz Y
	11	Einnahme	Substanz Y
	12	Einnahme	Substanz Y
	13	Einnahme Chronischer Versuch	Substanz Y
	14	Pause	
	15	Pause	
	16	Akutversuch mit Alkohol Einnahme	Substanz Z Substanz Z
	17	Einnahme	Substanz Z
	18	Einnahme	Substanz Z
	19	Einnahme Chronischer Versuch	Substanz Z

Abb.1: Zeitlicher Ablauf der Studie

3. Gastric Washing

Für die Magenwaschung wurde dem nüchternen Probanden eine doppellumige Sonde bis in das Antrum geschoben und deren Lage röntgenologisch kontrolliert. Das distal offene Lumen der kürzeren Sonde endete 15 cm proximal der längeren, lag in Höhe der Kardia und diente der Instillation der Waschflüssigkeit bzw. der Testsubstanz.

Die längere Sonde war distal mit 10 Löchern in einem Segment von 15 cm Länge ausgerüstet und diente der Aspiration des Mageninhalts (Abb.2).

Vor Beginn des eigentlichen Versuchs wurde der Magen mit physiologischer Kochsalzlösung so lange vorgereinigt, bis in der manuell aspirierten Flüssigkeit kein Schleim mehr zu erkennen war.

Dann wurde vorgewärmte 0,9%ige NaCl-Lösung über einen Zeitraum von 15 min infundiert und kontinuierlich mit Hilfe eines Gastromaten aus dem Magen gesaugt (Spülung).

Während dieser Zeit mußte sich der Proband häufig von einer Seite auf die andere drehen, damit das ganze Magenlumen ausgespült wurde.

Zwischen den Spülungen wurden entweder 50 ml 0,9%ige NaCl, die zu testenden Substanzen (2 Beutel ad 100 ml 0,9% NaCl) oder 50 ml 40%iger Alkohol intragastral durch die Sonde verabreicht und 15 min im Magen be-

lassen (Instillation).

Anschließend wurde das Instillat per Hand reaspi-
riert und verworfen. Unmittelbar danach wurde wie-
der mit NaCl gespült, wie oben beschrieben.

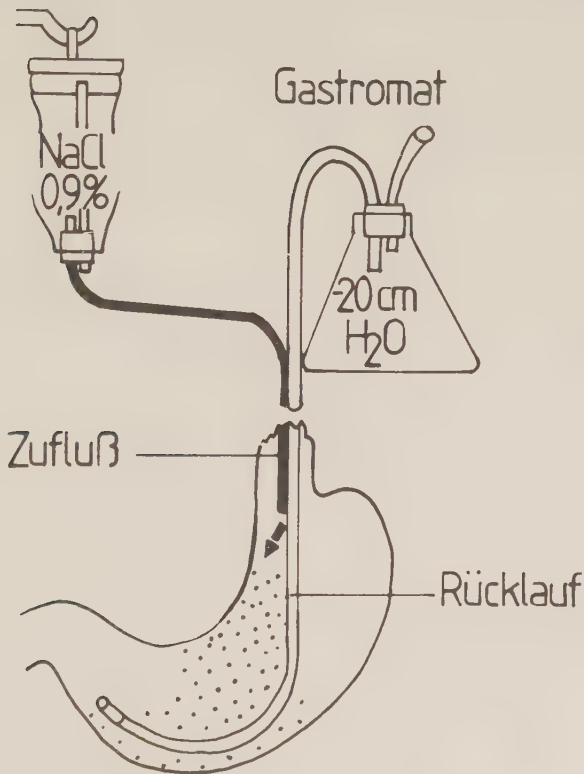


Abb.2: Versuchsanordnung der Magenwaschung

Der Ablauf der einzelnen Magenwaschungen wird aus den Abbildungen 3 - 5 ersichtlich (Seiten 10 - 12).

Beim Akutversuch mit Alkohol erfolgte die Spülung E zur Kontrolle des weiteren Verlaufs der Zelldesquamation.

Im Akutversuch ohne Alkohol und im chronischen Versuch wurde diese fünfte Spülung ebenfalls zum Zweck einer Kontrolle durchgeführt und um zeitlich einheitliche Versuchsabläufe zu gestalten.

Die Instillationen von 0,9%iger NaCl erfolgten gleichfalls im Sinne einer einheitlichen Versuchsanordnung.

In dem bei einer Spülung gewonnenen Aspirat (Spülproben A - E) befinden sich die während dieser 15 min dauernden Spülperiode aus dem Epithelverband herausgelösten Mukosazellen (4).

Je 100 ml der Spülprobe wurden mit 2,5 ml 0,2 molarer EDTA-Lösung, 0,15 ml 30% Rinderalbumin und 10 ml 50% Trichloressigsäure versetzt und das Gemisch anschließend bei -20°C tiefgefroren.

Nach frühestens sieben Tagen wurde das Aspirat bei Zimmertemperatur aufgetaut und fraktioniert bei 4°C und 3000 R/min für 30 min zentrifugiert.

Nach Entfernung des Überstandes wurde der Bodensatz mit 10 ml 5% Trichloressigsäure 15 min bei 90°C im

Wasserbad hydrolisiert und anschließend 45 min lang bei 3000 R/min zentrifugiert.

Der Überstand wurde aufbewahrt und der verbliebene Zellschrott nochmals wie oben hydrolisiert und zentrifugiert.

Der Überstand aus der zweiten Hydrolyse wurde zusammen mit dem ersten nochmals für mindestens 48 Stunden bei -20°C tiefgefroren.

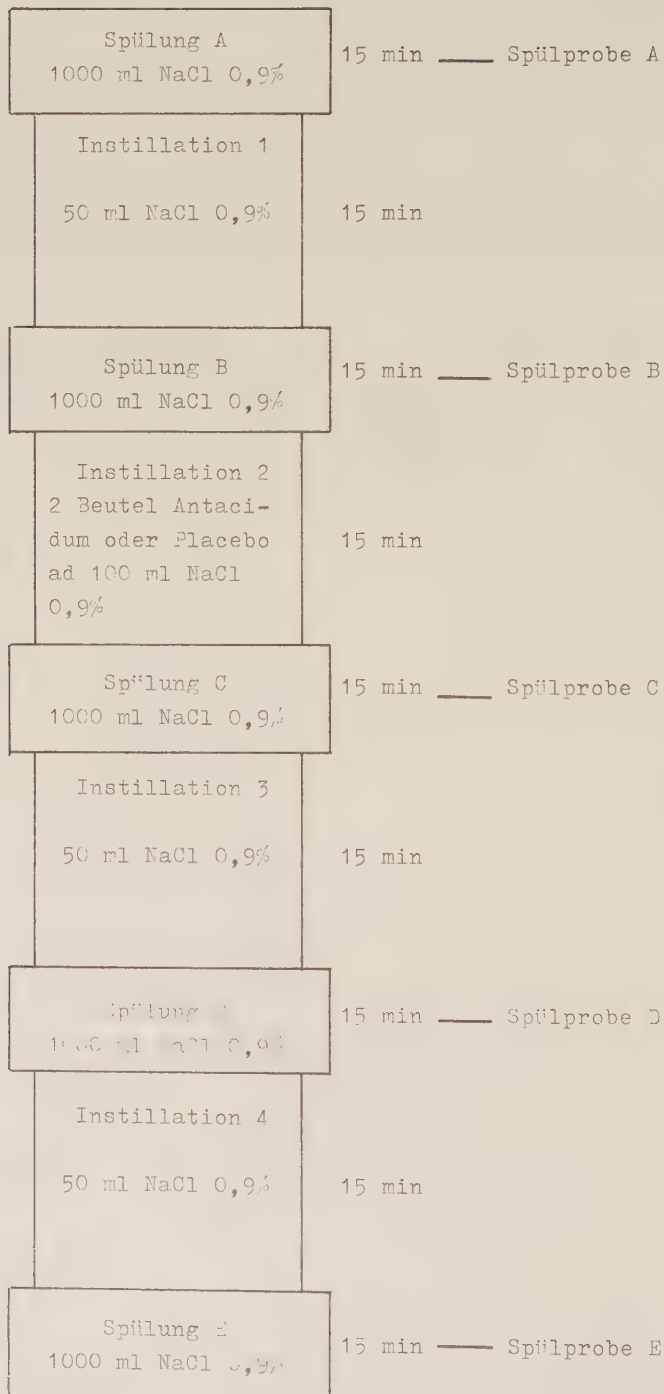


Abb.3: Ablauf der Akutversuche ohne Alkoholinstillation

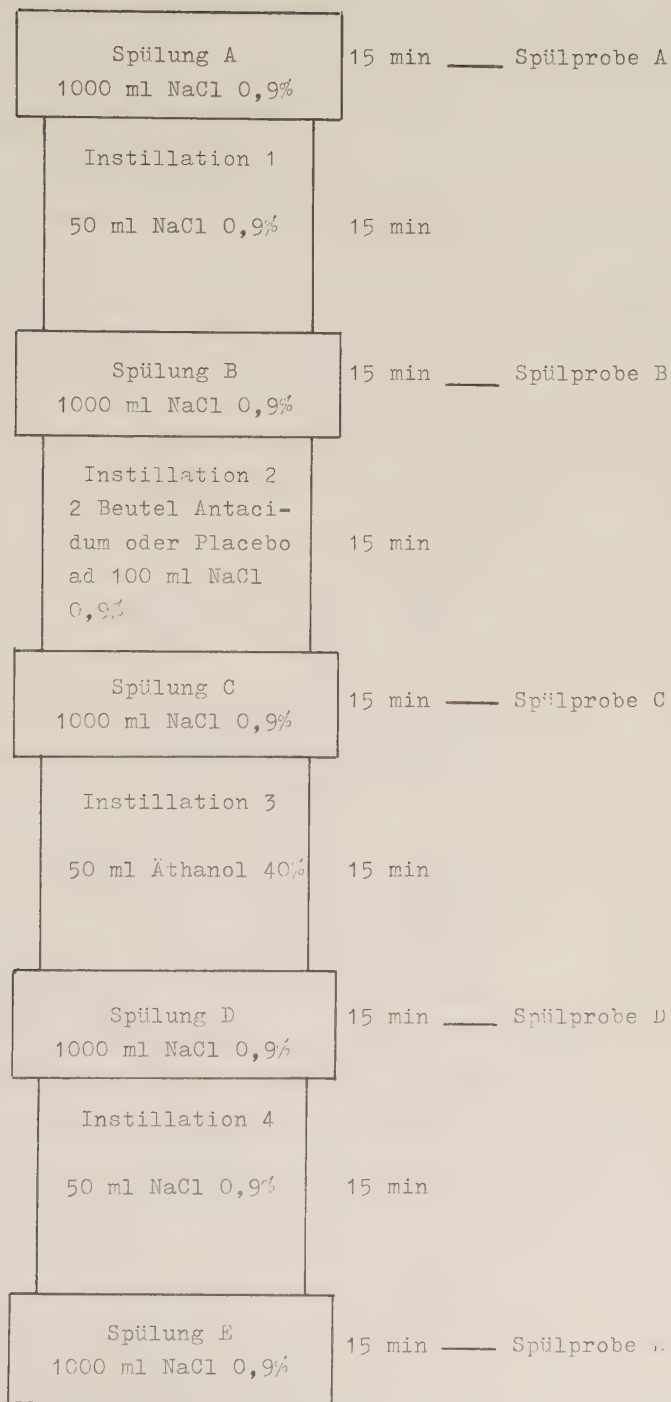
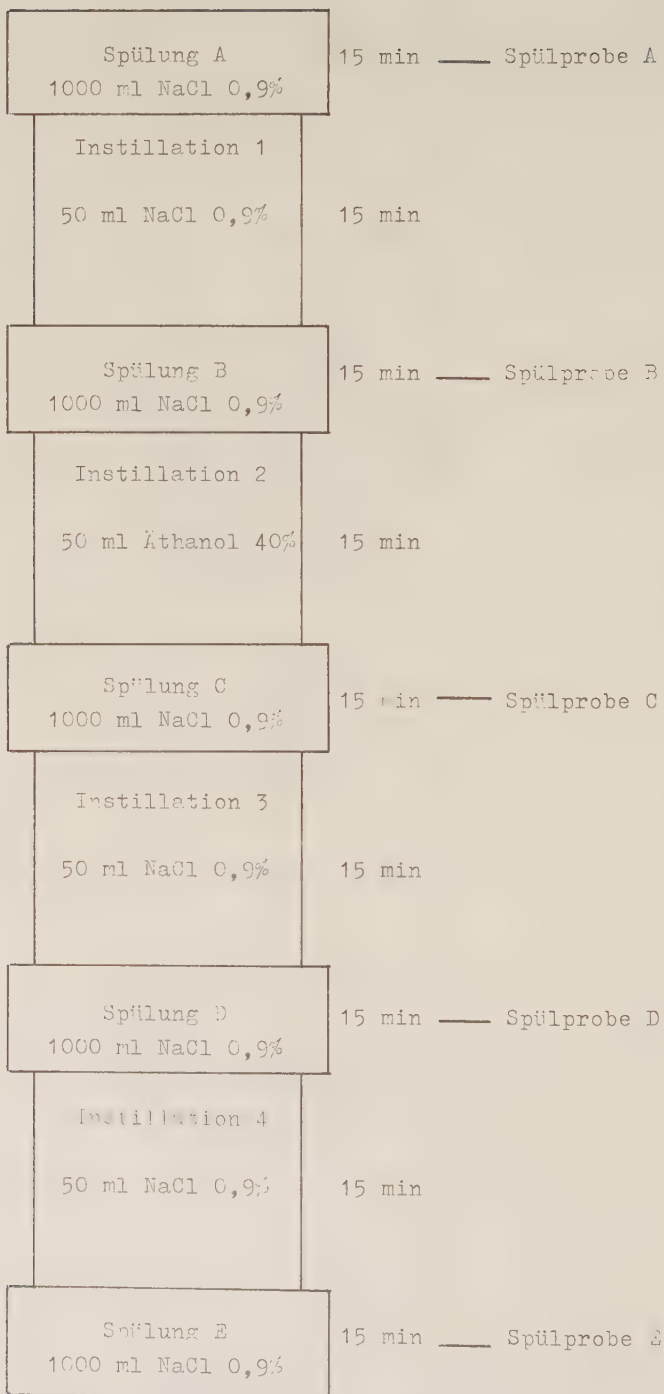


Abb.4: Ablauf der Akutversuche mit Alkoholinstitution



...: Ablauf der chronischen Versuche nach vierwöchiger
Nahme der Testsubstanzen

4. DNA-Bestimmung

Die Proben wurden bei 37°C aufgetaut, nochmals 60 min bei 3000 R/min zentrifugiert und dann für die Diphenylamin-Farbreaktion weiterbehandelt:

2 ml der Probe wurden mit 0,2 ml 60% Perchlorsäure und 2 ml 2% Diphenylaminreagens versetzt.

(2% Diphenylaminreagens: 1 g Diphenylamin aufgelöst in 40 ml Eisessig und 1 ml konz. H_2SO_4 , auf 50 ml mit Eisessig aufgefüllt und mit 0,25 ml 2% Acetaldehyd-lösung versetzt.)

Nach 48-stündiger Inkubationszeit bei 4°C im Kühlschrank haben sich Proben, in denen DNA enthalten ist, blau verfärbt.

Der DNA-Gehalt der Proben wird photometrisch mit Hilfe eines mitgeführten DNA-Standards (Abb.6) bei 660 nm gegen einen Leerwert abgelesen.

Die erhaltenen Werte (μg) korrigiert man noch hinsichtlich Volumenverlust und Aspirationszeit

(μg DNA x Verdünnungsfaktor $\frac{20ml \text{ Gesamtvolumen}}{2ml \text{ inkubiertes Vol}}$ x $\frac{\text{eingelaufene Menge NaCl}}{\text{aspirierte Menge NaCl}}$ / Aspirationszeit).

Außerdem muß der Phosphatgehalt der DNA berücksichtigt werden, weil der photometrische DNA-Nachweis über den DNA-Phosphor erfolgt. Deshalb werden die korrigierten DNA-Mengen (μg DNA/min) in ng DNA-P/min entsprechend dem Phosphorgehalt der Standard-

Lösung umgerechnet ($1 \mu\text{g DNA} \hat{=} 93 \text{ mg Phosphor}$).

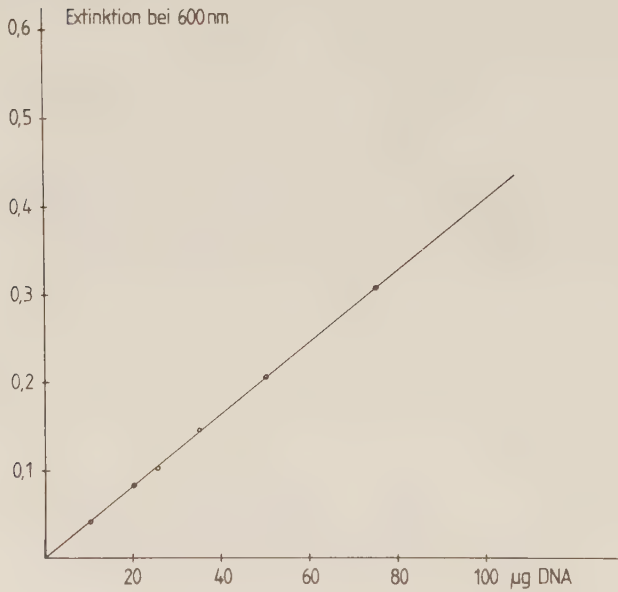


Abb.6: Eichkurve der DNA-Bestimmung

5. Statistik

Im Kolmogorow-Smirnow-Test wurden normalverteilte bzw. nicht-normalverteilte Meßreihen ermittelt. Bei Normalverteilung wurde im t-Test, bei nicht-

normalverteilten Ergebnissen im Wilcoxon-Test die Irrtumswahrscheinlichkeit "p" ermittelt (21).

Korrelationsanalysen wurden bei normalverteilten Meßreihen durchgeführt, bei nicht-normalverteilten die Korrelationsanalyse nach Spearman (18).

Den Säulendiagrammen wurden bei normalverteilten Ergebnissen der Mittelwert $\pm$ SEM (standard error of means), bei nicht-normalverteilten Meßreihen der Median mit 1. und 9. Dezil zugrunde gelegt. Für signifikante Unterschiede der Zelldesquamarationsraten vor und nach Instillation der zu testenden Substanzen wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit $p \leq 0,05$ gefordert.

6. Materialangaben

Reagenzien:

Acetaldehyd-Lösung	E. Merck AG, Darmstadt
Desoxyribonucleinsäure reinst. aus Kälberthymus	Serva Feinbiochemica GmbH & Co, Heidelberg
Diphenylamin p.A.	
Essigsäure rein. 96 % z.A.	E. Merck AG, Darmstadt
Natriumchlorid 0,9% p.j.	Pfrimmer & Co, Erlangen
1000 ml Flaschen	

Natronlauge 1 N; Titrisol	E. Merck AG, Darmstadt
Perchlorsäure 60%	
konz. Schwefelsäure	
Serumalbumin 30% vom Rind,	Beringwerke AG, Marburg/L.
reinst.	
Titriplex III z.A.	E. Merck AG, Darmstadt
(Äthylendinitrilotetra-	
essigsäure-Dinatriumsalz)	
Trichloressigsäure krist.p.A.	

Geräte:

Gastromat 1965 N 10 08	Oehler & Braun, Stuttgart
Infusionsbesteck Normafix	Braun Melsungen
Photometer Eppendorf	Netheler & Hinz, Hamburg
Mechanische Pipetten Eppendorf	
Wasserbad Kottermann Typ 3044	Haningsen
Cyrofuge 6-6	Fa. Christ, Osterode/Harz
Zentrifuge Martin Christ	
Typ UJ 3	
mit röntgendichtem Führungs-	
draht selbstgefertigte Ma-	
gensonden, $\varnothing=4\text{mm}$, aus PVC	

Lebensmittel:

Aluminiumhydroxid-Magnesium-	Arznei Müller-Rorer GmbH,
hydroxidgel (Maaloxan ^R)	Bielefeld
Aluminiumphosphatgel	Biotherax GmbH, Saarbrücken
(Phosphalugel ^R)	
Placebo	

III Ergebnisse

1. Nebenwirkungen

Alle acht Probanden klagten während der Einnahme von Phosphalugel^R und Placebo über mehr oder weniger stark ausgeprägte Obstipation.

Eine Probandin konnte während der Einnahmeperiode von Phosphalugel^R keine Süßigkeiten essen, da ihr danach stets übel wurde.

Bei der Spülung nach der vierwöchigen Einnahme von Phosphalugel^R war in jedem Falle das Aspirat ausgesprochen viskös und opaque.

Auf die Einnahme von Maaloxan^R reagierten alle Studienteilnehmer mit leichten bis starken Diarrhoen.

Ein Proband hatte im Anschluß an die vierwöchige Maaloxan^R-Einnahme zwei Wochen lang Sodbrennen.

2. Ausscheiden zweier Probanden

Eine Teilnehmerin zeigte bei einem Akutversuch mit Alkoholgabe zweifach erhöhte DNA-Werte, was nach Croft für eine akute Gastritis spricht (7). Die Probandin klagte zu dieser Zeit auch über starke Magenschmerzen.

Ihre Turnoverwerte waren auch noch nach der vierwöchigen Einnahme von Phosphalugel^R erhöht; sie erreichten das normale Niveau erst wieder nach der vierzehntägigen Einnahmepause, also zu Beginn der nächsten Versuchsperiode.

Während der restlichen Versuchsdauer zeigte die Probandin ausschließlich normale Turnoverwerte, klagte aber des öfteren noch über geringe Magenbeschwerden. Eine Gastroskopie ergab keinen Hinweis auf eine Gastritis. Die Probandin war während dieser Zeit offensichtlich vermehrt beruflich gefordert; außerdem litt sie an einer rezidivierenden Sinusitis ethmoidalis.

Bemerkenswert ist aber, daß sich ihre subjektiven Beschwerden sowie die erhöhten Zelldesquamationsraten während der vorschriftsmäßigen Einnahme des Antacidums nicht besserten.

Der zweite Proband, der bis dahin nach eigenen Angaben noch nie unter Magenbeschwerden litt, zeigte von Anfang bis Ende der Studie einen drei- bis viermal höheren Zellturnover als die übrigen Studienteilnehmer. Dies ist nach Croft charakteristisch für eine chronisch atrophische Gastritis (6).

Der Proband unterzog sich ebenfalls einer Gastroskopie, bei der allerdings nur eine schwere Magenentleerungsstörung diagnostiziert werden konnte.

Der Proband hatte zwölf Stunden vor der Untersuchung Speisequark gegessen, der zum Zeitpunkt der Endoskopie noch in erheblicher Menge im Magen war. Bis heute konnte sich der Proband leider nicht zu einer zweiten Gastroskopie mit Biopsie entschließen, so daß die Diagnose einer chronisch atrophischen Gastritis nicht gesichert werden konnte.

Die Turnoverwerte dieser beiden Versuchsteilnehmer wurden bei der Auswertung der Ergebnisse nicht berücksichtigt.

3. Akutversuche ohne Alkoholinstillation

In den Akutversuchen, bei denen nur die jeweiligen Testsubstanzen ohne nachfolgende Alkoholinstillation intragastral verabreicht wurden, blieb die Zelldesquamationsrate während des ganzen Versuchs annähernd unverändert gegenüber dem Basalwert ($p > 0,05$). Bei dem Placebo-Versuch zeigte sich dies am deutlichsten, womit Crofts Vermutung eines konstanten Zellturnovers unter Normalbedingungen bestätigt wurde (5).

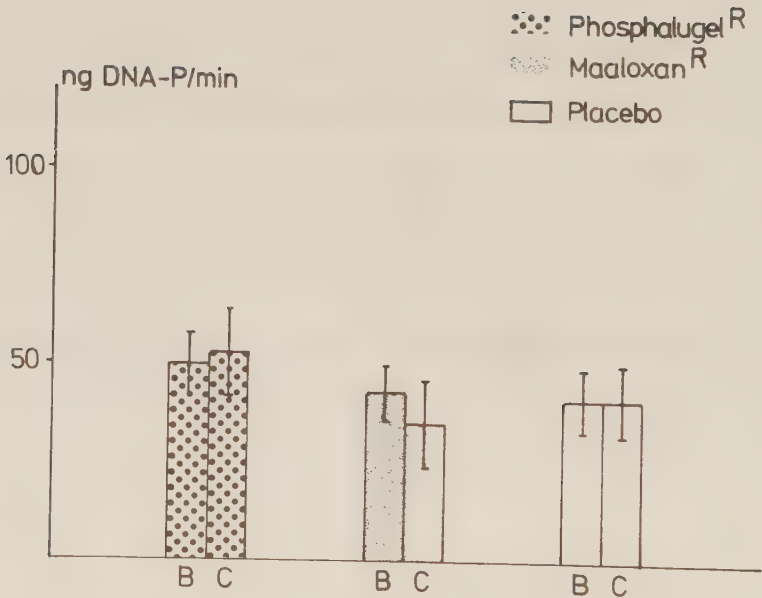


Abb.7: Akutversuche ohne Alkoholinstillation

Dargestellt sind die Mittelwerte $\pm$ SEM von

B= basale Abschlferungsrate

C= Abschlferungsrate nach Instillation der
Testsubstanzen

4. Akutversuche mit Alkoholinstillation

Bei den Akutversuchen mit Alkoholinstillation er-

folgte trotz vorangegangener Instillation von Phosphalugel^R ein signifikanter Anstieg der Epithelzelldesquamationsrate nach Alkoholgabe ($p < 0,05$). Mit Maaloxan^R bzw. Placebo war hingegen kein signifikanter Anstieg nach Alkoholinstitution zu beobachten ($p > 0,05$).

Da die Grenzen für signifikante Werte im Wilcoxon-Test sehr eng gesetzt sind, wurde wegen der starken interindividuellen Unterschiede der Turnoverwerte und der geringen Stichprobenzahl noch der t-Test durchgeführt.

Hier zeigte sich für alle drei Substanzen ein signifikanter Anstieg der DNA-Werte nach Alkoholgabe ($p < 0,05$).

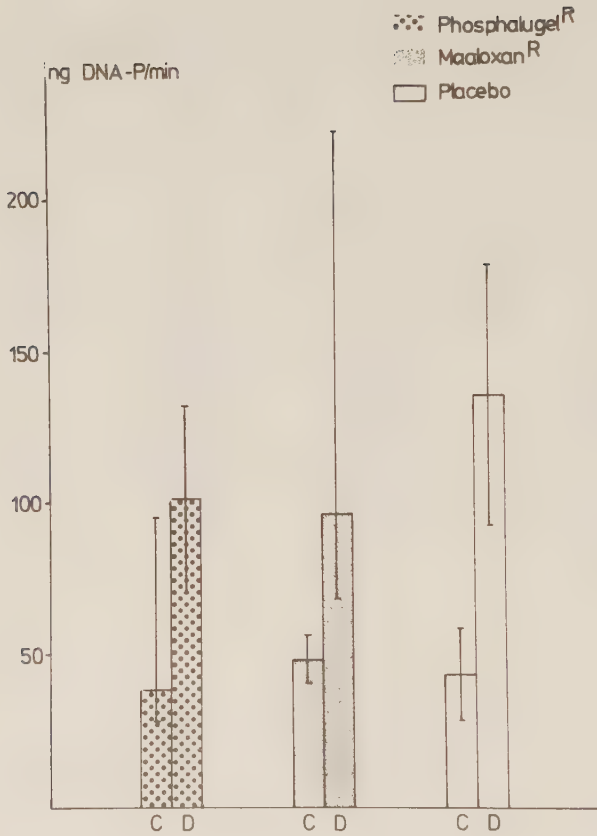


Abb.8: Akutversuche mit Alkoholinstillation

Dargestellt sind die Mittelwerte $\pm$ SEM bzw.
Median mit 1. und 9. Dezil von

C= Abschilferungsrate nach Instillation der
Testsubstanzen

D= Abschilferungsrate nach Alkoholinstillation

5. Chronische Versuche

Im Anschluß an die vierwöchigen Einnahmeperioden war die Turnoverrate nach Alkoholgabe in jedem Falle signifikant höher als der Ausgangswert ($p < 0,05$).

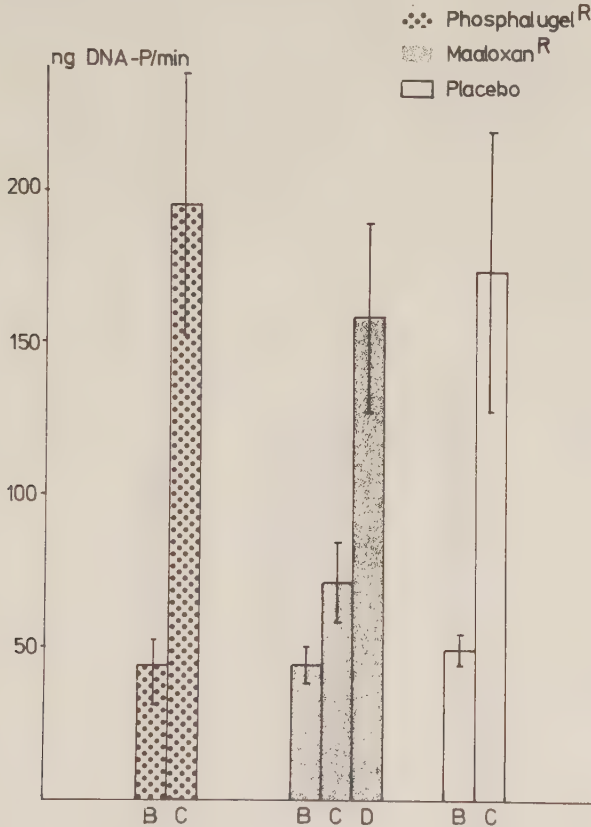


Abb.9: Chronische Versuche nach vierwöchiger Einnahme der Testsubstanzen

Dargestellt sind die Mittelwerte $\pm$ SEM von
B= basale Abschlüßungsrate

C= Abschlüßungsrate nach Alkoholinstillation

D= Abschlüßungsrate 30 min nach Alkoholgabe

Vergleicht man die nach Alkoholinstillation erhaltenen Epithelzellschilferungsraten im Akutversuch mit denen nach der Einnahmeperiode, so ergeben sich keine Unterschiede in Bezug auf die Steigerung der Desquamationsraten nach Alkohol ($p > 0,05$). Es fällt jedoch auf, daß die Raten nach der vierwöchigen Vorbehandlung höher sind als diejenigen nach einmaliger Verabreichung der Testsubstanz im Akutversuch.

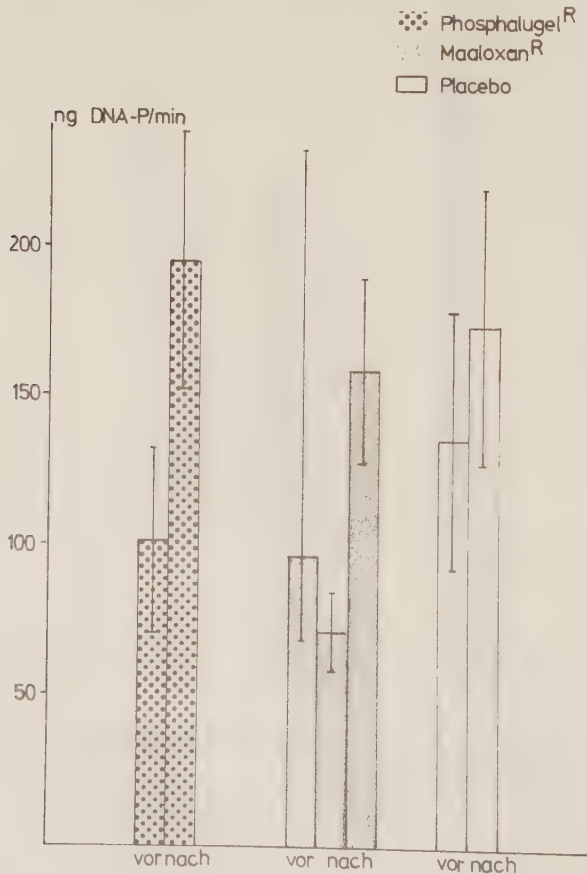


Abb.10: Vergleich der Turnoverraten nach Alkoholgabe vor und nach vierwöchiger Sinnahme der Testsubstanzen Dargestellt sind die Mittelwerte $\pm$ SEM bzw. Median mit 1. und 9.Dezil

Vergleicht man aber die Summen der beiden höchsten Turnoverraten vor und nach der vierwöchigen Einnahme der Testsubstanzen, so erhält man nur für Phosphalugel^R einen signifikanten Unterschied ($p=0,01$; hochsignifikant; t-Test).

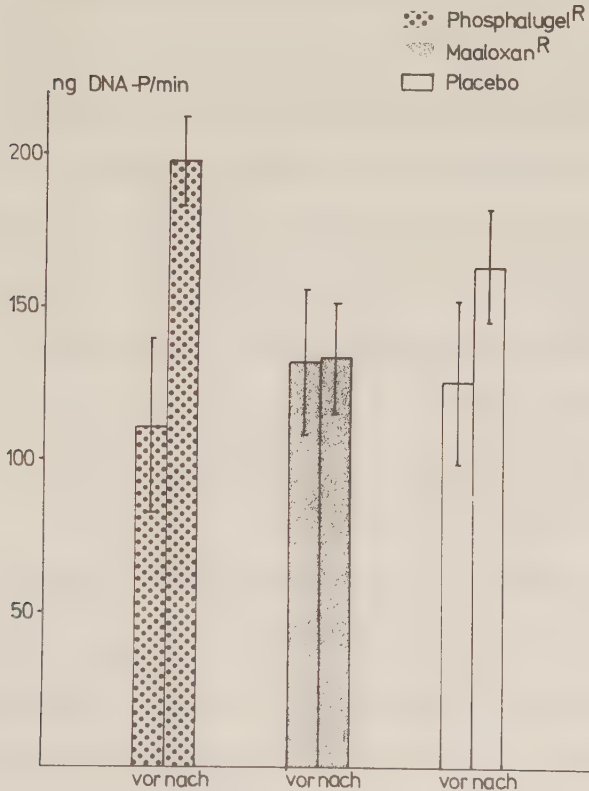


Abb.11: Vergleich der Summen der beiden höchsten Turnoverraten vor und nach der Einnahmeperiode
Dargestellt sind die Mittelwerte $\pm$ SEM der Summen der beiden individuell höchsten Werte

IV Diskussion

1. Gastric Washing

Die Proliferationszone der Magenschleimhaut ist im Bereich des distalen Grübchens und des Drüsenhalses lokalisiert. Hier findet ein kontinuierlicher Zellturnover statt (19).

Die Zellen wandern zur Mukosaoberfläche und werden dann in das Magenlumen abgestoßen (4). Die Menge der pro Minute abgeschilferten Zellen kann man mit der von Croft entwickelten Methode des "gastric washing" bestimmen (4,5). Die pro Zeiteinheit abgestoßene DNA-Menge ist mit der Menge der abgeschilferten Zellen korrelierbar, da jede Zelle die gleiche Menge DNA enthält (5).

Eine Verfälschung des Ergebnisses durch Kontakt der Sonde mit der Magenwand und eine dadurch hervorgerufene Änderung der Säuresekretion (17) ist bei Berücksichtigung des großen instillierten Flüssigkeitsvolumens nicht zu erwarten.

Der kontinuierliche Sog des Gastromaten reduziert das Abfließen der infundierten Kochsalzlösung durch den Pylorus auf ein unbedeutendes Maß. Croft et al untersuchten den möglichen Flüssigkeitsverlust durch Volumenkorrektur mit dem nicht absorbierbaren Marker Polyäthylenglycol 4000 (5).

Dabei stellte sich heraus, daß auf diese Weise auch das von der Infusionsmenge verlorengegangene Volumen erfaßt wurde. Korrigiert man, wie Croft et al zeigten, den Volumenverlust mit Hilfe des Multiplikationsfaktors $F = \text{instilliertes Volumen} / \text{aspiriertes Volumen}$, so erhält man praktisch die gleichen Ergebnisse wie mit der Markerkorrektur.

Eine Verfälschung des Ergebnisses durch Speichel wurde verhindert, indem die Probanden angehalten wurden, während der Untersuchung das Verschlucken von Speichel zu vermeiden.

Der Reflux von Duodenalinhalt in den Magen oder DNA-haltige Bakterien im Magen sind weitere Fehlerquellen. In den vorliegenden Experimenten kam es jedoch zu keinem wesentlichen Gallereflux, da die aspirierte Spülflüssigkeit keine sichtbare Grünfärbung durch Gallenfarbstoff erkennen ließ.

Sickerblutungen konnten während der Versuche nicht festgestellt werden. Sie würden das Ergebnis allerdings nicht beeinflussen, weil Erythrozyten keine DNA enthalten und die Leukozyten dabei zahlenmäßig nicht ins Gewicht fallen.

Der Zusatz der Reagenzien (EDTA, Rinderalbumin, Trichloressigsäure) erfolgte, um Elektrolyte zu binden, Enzyme zu denaturieren und Zellen zu zerstören und somit das Freiwerden der DNA zu ermöglichen.

Das Einfrieren der Proben erleichtert die Sedimentation der Zellen bei der anschließenden Zentrifugation. Ein DNA-Verlust findet hierbei nicht statt (5).

2. DNA-Bestimmung

Um eine Interferenz der im Aspirat enthaltenen Sialinsäuren zu verhindern, wurde die von Burton beschriebene Diphenylaminreaktion modifiziert (1).

Die Konzentration des Diphenylaminreagenzes wurde auf 2% erhöht und die Proben 48 Stunden bei Temperaturen von 6° - 13° C inkubiert (5).

Die photometrische Messung der Proben erfolgte zusätzlich bei 550 nm. In diesem Wellenbereich liegt das Absorptionsmaximum der Sialinsäuren. Bei diesen Messungen wurden durchwegs niedrigere Werte als bei der Messung mit 600 nm abgelesen, so daß eine Verfälschung der Ergebnisse durch Sialinsäuren ausgeschlossen werden kann.

In Vorversuchen wurde außerdem sichergestellt, daß das in Phosphalugel^R enthaltene Phosphoratom keine Verfälschung der Farbreaktion verursacht.

3. Ergebnisse

Die größte Fehlerquelle dieser Studie liegt zweifelsohne in der Mitarbeit der Probanden bezüglich der regelmäßigen und vorschriftsmäßigen Einnahme der Testsubstanzen.

Es wurden deshalb nur Personen ausgewählt, die schon wiederholt an klinischen Studien teilgenommen hatten und als zuverlässig galten.

Außerdem wurden die Probanden gebeten, nach den Einnahmeperioden eine Stuhlprobe mitzubringen, an Hand derer man zumindest die Angaben über die Stuhlkonsistenz überprüfen konnte. Den Teilnehmern war nicht bekannt, ob die Stuhlprobe untersucht wurde. Sie mußten daher annehmen, daß die regelmäßige Einnahme der Medikamente mit diesen Proben kontrolliert werden konnte.

Insgesamt kann davon ausgegangen werden, daß die Compliance der Probanden trotz des für sie langen Untersuchungszeitraums gut war.

Die unterschiedlichen Ergebnisse der Akutversuche mit Alkoholinstillation im Wilcoxon- und im t-Test lassen sich durch die starke interindividuelle Streuung der Turnoverraten erklären. Betrachtet man das Säulendiagramm der Abbildung 8, so muß für alle drei Substanzen ein doch deutlicher Anstieg der Zelldes-

quamationsrate nach Alkoholinstillation konstatiert werden.

Bei dem Placebo-Versuch steigen die Werte am deutlichsten an. Da bei den Akutversuchen ohne Alkoholgabe (Abb. 7) die Placebowerte außerdem am besten mit Turnoverwerten unter Normalbedingungen übereinstimmen, kann davon ausgegangen werden, daß das Placebo tatsächlich keine Eigenwirkung hatte.

Nach den vierwöchigen Einnahmeperioden ist der Sprung im Anstieg der Zelldesquamationsraten nach Alkoholgabe unübersehbar. (Abb. 9). Allerdings erfolgte er bei Maaloxan^R erst in der zweiten Spülung nach Alkoholinstillation, d.h. 15 Minuten später als bei Phosphalugel^R und Placebo. Da die Turnoverraten vor und nach der Einnahmezeit jedoch für beide Antacida nahezu gleich ausfallen (Abb. 10), kann man für Maaloxan^R bei chronischer Einnahme keine günstigere Auswirkung auf den Zellturnover feststellen als für Phosphalugel^R.

Auffallend ist auch der hochsignifikante Unterschied der kumulativen Turnoverraten nach Alkohol zwischen den Experimenten mit bzw. ohne Einnahme von Phosphalugel^R (Abb. 11). In den Spülungen nach der vierwöchigen oralen Zufuhr dieses Antacidums wurde ausnahmslos ein äußerst visköses und opaques Aspirat

beobachtet, während nach Maaloxan^R- und Placeboeinnahme die Spülproben genauso aussahen wie in den Akutversuchen. Man muß also annehmen, daß nach der chronischen Phosphalugel^R-Einnahme eine dickere Schleimschicht aus dem Magen ausgewaschen wurde und daß in dieser dickeren Schicht mehr Zellen enthalten waren.

Mit der DNA-Bestimmung läßt sich nicht entscheiden, ob der Alkohol nun die Desquamation funktionstüchtiger Zellen zusammen mit Phosphalugel^R beschleunigte oder ob er nur bereits abgestorbene, durch den Schleim länger an der Mukosa haftende Zellen ausgewaschen hat.

Um diese Frage zu klären, müßte man die Dicke der auf der Mukosa befindlichen Schleimschicht vor und nach chronischer Antacidumeinnahme an Hand von Gewebsproben messen. Außerdem müßte in Enzymtests geklärt werden, ob der Zellstoffwechsel im Sinne einer Zytoprotektion verändert war. Wegmann und Bergerot-Blondel haben solche histo-enzymatischen Untersuchungen am Rattenmagen durchgeführt (22).

Ob man solche aufwendigen Untersuchungen freiwilligen Probanden und Ulcus-Patienten zumuten kann, ist immerhin fraglich. Die Testpersonen müßten sich zusätzlich zu der als lästig empfundenen lang dauernden Medikamenteneinnahme zu mehreren Gastroskopen mit Biopsien bereit erklären, was erhebliche seeli-

sche und körperliche Belastungen mit sich brächte.

Mit der ausschließlichen Bestimmung des Zellturnovers der Mukosa läßt sich also die Frage einer Zytoprotektion durch Antacida nicht endgültig beantworten. Man kann lediglich feststellen, daß mit der Methode des "gastric washing" keine Reduktion der Zellabschilferungsraten nachweisbar war.

V Zusammenfassung

In einer randomisierten Doppelblindstudie wurde die Wirkung von Maaloxan^R, Phosphalugel^R und Placebo auf den Zellturnover der Magenschleimhaut untersucht.

In Akut- und Langzeitversuchen wurde getestet, ob Antacida die durch Alkohol induzierte Erhöhung der Zelldesquamationsrate vermindern können, was einem zytoprotektiven Effekt entspräche.

Mit der von Croft entwickelten Methode der Magenwaschung (4) konnte eine solche Zytoprotektion durch Antacida nicht nachgewiesen werden.

Hinsichtlich der erzielten Ergebnisse erscheint es jedoch sinnvoll, diese Frage mit histo-enzymatischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Magenschleimhaut weiter abzuklären.

VI Literaturverzeichnis

1. Burton, K.: A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid.
Biochem. J. 62:315 - 323 (1956)
2. Butler, M. L., Gersh, H.: Antacid vs placebo in hospitalized gastric ulcer patients: a controlled therapeutic study.
Amer. J. Dig. Dis. 20:803 - 807 (1975)
3. Caspary, W. F., Graf, S.: Bindung von Gallensäuren an Antacida
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 83:1714 - 1717 (1977)
4. Croft, D. N., Lubran, M.: The estimation of deoxyribonucleic acid in the presence of sialic acid: application to analysis of human gastric mucosa.
Gastroenterology 51:100 - 104 (1966)
5. Croft, D. N., Lubran, M.: Cell loss from human gastric mucosa measured by the estimation of deoxyribonucleic acid (DNA) in gastric washings.
Gut 7:333 - 343 (1966)
6. Croft, D. N., Lubran, M.: Gastric mucosal cell loss in man, its measurement and significance.
Gastroenterology 51:105 - 110 (1966)

7. Croft, D.N.: Gastritis - cell turnover studies in
"Topics in Gastroenterology", ed. by
S.C. Truelove, D.P. Jewell, Blackwell,
Oxford: pp 58 - 64 (1973)
8. Desai, H.G., Venugopalan, K., Antia, F.P.: Effect of
red chilli powder on DNA content of
gastric aspirates
Gut 14:974 - 976 (1973)
9. Hollander, D., Harlan, J.: Antacids vs placebo in
peptic ulcer therapy. A controlled
double-blind investigation
J. Amer. med. Ass. 226:1181 - 1185 (1973)
10. Holtermüller, K.H., Bohlen, E., Castro, M., Weis, H.J.:
Überlegungen zur Therapie mit Antacida
M.Klin. 72:1229 - 1241 (1977)
11. Lorber, S.H., Stelzer, F.A., Mayer, E.M.: Effect of
antacid and placebo on pain of duode-
nal ulcer.
Gastroenterology 74:1052 (1978)
12. Max, M., Menguy, R.: Influence of Adrenocorticotropin,
Cortisone, Aspirin and Phenylbutazone on
the rate of exfoliation and the rate of
renewal of gastric mucosal cells
Gastroenterology 58:322 - 336 (1970)
13. Metz, K., Rösch, W.: Vergleichende Untersuchung
handelsüblicher Antacida
Z.Gastroenterologie 19:212- 221 (1981)

14. Peterson, W.L., Sturdevant, R.A.L., Frankl, H.D.,
Richardson, C.T., Isenberg, J.I., Elashoff,
J.D., Jones, J.Q., Gross, R.A., McCallum,
R.W., Fordtran, J.S.: Healing of
duodenal ulcer with an antacid regimen.
New Engl.J.Med.297:341 - 345 (1977)
15. Robert, A., Nezamis, J.E., Lancaster, C., Hanchar, A.J.:
Cytoprotection by prostaglandines in
rats: prevention of gastric necrosis
produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic
NaCl and thermal injury
Gastroenterology 77:433 - 443 (1979)
16. Ruppin, H., Person, B., Robert, A., Domschke, W.: Gastric
cytoprotection in man by Prostaglandin E₂
Scand.J.Gastroent.16:647 - 652 (1981)
17. Schlotthauer, B., Nöller, H.G.: Ergebnisverfälschung
bei den Magenuntersuchungen bedingt
durch die Schlauchtechnik
Münch.Med.Wschr.106:785 - 789 (1964)
18. Snedecor, G.W., Cochran, W.G.: Statistical methods,
6th ed.The Iowa State University Press,
Ames, Iowa, USA (1967)
19. Stevens, C.E., Leblond, C.P.: Renewal of the mucous
cells in the gastric mucosa of the rat.
Anat.Rec.115:231 - 243 (1953)

20. Sturdevant, R.A.L., Isenberg, I.J., Secrist, D.,
Ansfield, J.: Antacid and placebo
produced similar pain relief in duo-
denal ulcer patients.
Gastroenterology 72:1 - 5 (1977)
21. Sachs, L.: Statistik
Berlin-Heidelberg-New York, Springer (1972)
22. Wegmann, R., Bergerot-Blondel, Y.: Action of gastro-
duodenal dressing on the cellular me-
tabolism of digestive mucosa
Histochemical and enzymatical study
during stress ulcer
Ann.Histochim.21/1:1 - 14 (1976)

Herrn Professor Dr.med.L.Demling, Herrn Professor Dr.med.W.Domschke und im besonderen Herrn Privatdozent Dr.med.H.Ruppin und Herrn Dr.med.J.Hagel möchte ich für die Überlassung des Themas, die Benutzung der für die Untersuchungen und Analysen notwendigen Laboreinrichtungen und die Betreuung und Beratung beim technischen Teil sowie bei der schriftlichen Ausführung meiner Arbeit danken.

VII Anhang

Lebenslauf

Am 17. Januar 1958 wurde ich als zweites von drei Kindern des Ehepaares Karl und Ingeborg Burkhardt in Nürnberg geboren.

Meine Schulzeit verbrachte ich in meiner Heimatstadt, wo ich im Mai 1977 am Willstätter-Gymnasium das Abitur machte.

Im November 1977 begann ich das Studium der Medizin an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.

Die ärztliche Vorprüfung bestand ich im August 1979, den ersten Abschnitt der ärztlichen Prüfung im August 1980 und den zweiten Abschnitt im August 1982. Das Praktische Jahr absolvierte ich in Nürnberg an der 2. Medizinischen Klinik bei Prof. Dr. Platt und an der 1. Chirurgischen Klinik bei Prof. Dr. Holder sowie an der Universitätskinderklinik bei Prof. Dr. Stehr. Die ärztliche Prüfung bestand ich am 19. Oktober 1983 in Erlangen.

Seit Mai 1982 bin ich verheiratet.

